



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104039304 A

(43) 申请公布日 2014. 09. 10

- (21) 申请号 201280032036. 7 A23G 1/00 (2006. 01)
- (22) 申请日 2012. 06. 28 A23G 1/30 (2006. 01)
- (30) 优先权数据 A23G 3/34 (2006. 01)
 - 2011-145737 2011. 06. 30 JP A23L 1/00 (2006. 01)
 - A23L 2/00 (2006. 01)
- (85) PCT国际申请进入国家阶段日 A61K 8/34 (2006. 01)
 - 2013. 12. 27 A61Q 11/00 (2006. 01)
- (86) PCT国际申请的申请数据
 - PCT/JP2012/004187 2012. 06. 28
- (87) PCT国际申请的公布数据
 - W02013/001817 JA 2013. 01. 03
- (71) 申请人 罗蒂株式会社
 - 地址 日本东京
- (72) 发明人 儿玉悠史 成濑敦
- (74) 专利代理机构 上海专利商标事务所有限公
 - 司 31100
 - 代理人 冯雅
- (51) Int. Cl.
 - A61K 8/60 (2006. 01)
 - A21D 13/00 (2006. 01)

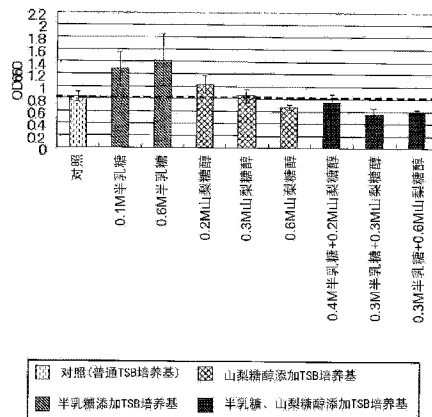
权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54) 发明名称

口腔内细菌的增殖抑制剂

(57) 摘要

本发明提供一种抑制口腔内细菌的增殖、即使摄取也无害的物质。特别是提供一种关于将糖和糖醇并用时的有用性尚不清楚、抑制口腔内细菌的增殖的糖和糖醇的组合。本发明是一种口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征是含有半乳糖和山梨糖醇。本发明的口腔内细菌的增殖抑制剂在牙周病的改善和预防方面有效。



1. 一种口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征在于,含有半乳糖和山梨糖醇。
2. 如权利要求1所述的口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征在于,以共计为0.5M~0.9M的浓度含有半乳糖和山梨糖醇。
3. 如权利要求1或2所述的口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征在于,半乳糖:山梨糖醇的比例在2:1~1:3的范围内。
4. 如权利要求1~3中任一项所述的口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征在于,口腔内细菌是牙周病原菌。
5. 如权利要求1~4中任一项所述的口腔内细菌的增殖抑制剂,其特征在于,口腔内细菌是具核梭杆菌。
6. 一种口腔组合物,其特征在于,含有权利要求1~5中任一项所述的口腔内细菌的增殖抑制剂。
7. 一种食品,其特征在于,含有权利要求1~5中任一项所述的口腔内细菌的增殖抑制剂。

口腔内细菌的增殖抑制剂

技术领域

[0001] 本发明涉及一种口腔内细菌的增殖抑制剂。

背景技术

[0002] 据说在人的口腔内栖息着多达数百种的细菌。其中也包含多种通过在牙龈或牙周引起炎症或者产生酸来溶蚀骨骼或牙齿、从而导致牙周病或龋齿的菌。

[0003] 具核梭杆菌 (*Fusobacterium nucleatum*) (下称具核梭杆菌 (*F. Nucleatum*)) 在人中是从健康和病症部位这两者的牙菌斑中都能大量检出的细菌种类 (非专利文献 1、2)。该菌的比例随着牙周病的发展而增加,因此认为其有助于牙周病的发病和发展 (非专利文献 3~5)。此外,已知其具有与其它多种细菌附着的能力,在牙菌斑中起到将早期集落形成菌种和包括牙周病原菌在内的后期集落形成菌种连接在一起的交联的作用 (非专利文献 6)。其还是作为口臭的原因物质的挥发性硫化化合物的产生菌种。因此认为,对具核梭杆菌显示出活性的抗菌剂对牙周病的预防、口腔内细菌的减少以及口臭的预防、减轻有效。

[0004] 对于将这些菌活化或抑制其活性的物质也正在进行研究。例如众所周知,糖类是龋齿病原菌制造酸时的原因物质。另一方面,已知糖醇具有对龋齿病原菌的增殖抑制作用,近年来也报道了对牙周病原菌的增殖抑制作用。

[0005] 现有技术文献

[0006] 非专利文献

[0007] 非专利文献 1: Papapanou, P. N., Sellen, A., Wennstroem, J. L. 和 Dahlen, G., 随机选取对象中的龈下菌群的分析 (An analysis of the subgingival microflora in randomly selected subjects), 《口腔微生物学和免疫学 (Oral microbiology and immunology)》, 8, 24-29 (1993).

[0008] 非专利文献 2: Moore, W. E. 和 Moore, L. V., 牙周疾病的细菌 (The bacteria of periodontal diseases), 《牙周病学 (Periodontology)》2000, 5, 66-77 (1994).

[0009] 非专利文献 3: Dzink, J. L., Socransky, S. S. 和 Haffajee, A. D., 破坏性牙周疾病的活动性病变和非活动性病变的主要可培养微生物 (The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases), 《临床牙周病学杂志 (Journal of clinical periodontology)》, 15, 316-323 (1988).

[0010] 非专利文献 4: Socransky, S. S., Haffajee, A. D. 和 Dzink, J. L., 龈下微生物复合体和采样部位的临床特征之间的关系 (Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites), 《临床牙周病学杂志》, 15, 440-444 (1988).

[0011] 非专利文献 5: Tanner, A. 和 Bouldin, H., 成人中的早期牙周炎病变的微生物 (The microbiota of early periodontitis lesions in adults), 《临床牙周病学杂志》, 16, 467-471 (1989).

[0012] 非专利文献 6: Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Eglund, P.

G., Foster, J. S. 和 Palmer, R. J. Jr., 口腔细菌之间的通讯 (Communication among oral bacteria), 《微生物学与分子生物学评论 (Microbiology and molecular biology reviews)》, 66, 486-505 (2002).

[0013] 非专利文献 7 :Krespi, Y. P., Shrime, M. G. 和 Kacker, A., 口臭和产生挥发性硫化化合物的细菌之间的关系 (The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria), 《耳鼻喉学 - 头颈外科 (Otolaryngology-Head and Neck Surgery)》, 135, 671-676 (2006).

[0014] 非专利文献 8 :Bolstad, A. I., Jensen, H. B. 和 Bakken, V., 具核梭杆菌的分类学、生物学和牙周病学面面观 (Taxonomy, Biology, and Periodontal Aspects of *Fusobacterium nucleatum*), 《临床微生物学评论 (Clinical Microbiology Reviews)》, 9, 55-71 (1996).

[0015] 非专利文献 9 :Kapatral, V., Anderson, I., Ivanova, N., Reznik, G., Los, T., Lyk idis, A. 和 Overbeek, R., 等, 口腔细菌具核梭杆菌 ATCC25586 菌株的基因组序列和分析 (Genome Sequence and Analysis of the Oral Bacterium *Fusobacterium nucleatum* Strain ATCC25586), 《细菌学杂志 (Journal of Bacteriology)》, 184, 2005-2018 (2002).

[0016] 非专利文献 10 :Kapatral, V., Ivanova, N., Anderson, I., Reznik, G., Bhattachar yya A., Gardner, W. L. 和 Kyrpides, N., 等, 具核梭杆菌文森亚种的基因组分析及其与具核梭杆菌 ATCC25586 的基因组的比较 (Genome Analysis of *F. nucleatum* sub spp *vincentii* and Its Comparison With the Genome of *F. nucleatum* ATCC25586), 《基因组研究 (Genome Research)》, 6A, 1180-1189 (2003).

发明内容

[0017] 发明所要解决的技术问题

[0018] 作为牙周病原菌和龋齿病原菌, 已知多种口腔内细菌, 要求提供抑制这些菌的增殖的物质。此外, 作为这样的物质, 由于要在口腔内起作用, 因此理想的是即使摄取至体内也无害的物质。

[0019] 鉴于上述课题, 本发明的目的是提供一种抑制口腔内细菌的增殖、即使摄取也无害的物质。其目的特别是提供一种关于将糖和糖醇并用时的有用性尚不清楚、抑制口腔内细菌的增殖的糖和糖醇的组合。

[0020] 解决技术问题所采用的技术方案

[0021] 本发明人进行了认真研究, 结果发现, 在含有半乳糖和山梨糖醇的培养基中, 口腔内细菌具核梭杆菌的增殖被显著抑制, 从而完成了本发明。即, 本发明涉及一种口腔内细菌的增殖抑制剂, 其特征是含有半乳糖和山梨糖醇。

[0022] 发明的效果

[0023] 通过使本发明的口腔内细菌的增殖抑制剂包含在食品或口腔组合物中, 能安全地日常使用或摄取, 能有效地减少口腔内细菌或者改善和预防牙周病, 还能预防、减轻口臭。

附图说明

[0024] 图 1 是表示针对实施例 2 中的各培养基而得的 OD 值的图。

[0025] 图 2 是表示针对实施例 3 中的各培养基而得的 OD 值的图。

[0026] 图 3 是表示针对实施例 4 中的各培养基而得的 OD 值的图。

具体实施方式

[0027] 本发明的含有半乳糖和山梨糖醇的口腔内细菌的增殖抑制剂具有协同地抑制具核梭杆菌的增殖的效果。具核梭杆菌通过与其它多种细菌附着而成为形成牙菌斑的原因，因此通过抑制该菌的增殖，能抑制成为牙周病和龋齿的原因的口腔内的其它细菌的增殖。此外，具核梭杆菌是牙周病的病原菌之一，因此本发明在牙周病的改善和预防方面有用。而且，该菌产生作为口臭的原因物质的挥发性硫化物，因此认为，抑制具核梭杆菌的增殖对于口臭的预防、减轻也有效。

[0028] 半乳糖和山梨糖醇的总摩尔浓度较好为 0.5M 以上 0.9M 以下。此外，半乳糖和山梨糖醇的摩尔浓度的比例较好为半乳糖：山梨糖醇 = 2:1 ~ 1:3。

[0029] 作为本发明的半乳糖，较好是使用 β -D-半乳糖。此外，作为本发明的山梨糖醇，较好是使用 D-山梨糖醇 (D-sorbitol、D-sorbit)。

[0030] 此外，本发明的增殖抑制剂可以掺入漱口剂、牙膏、吸入剂和含片剂等口腔组合物，口香糖、糖果、压片糖、软糖、巧克力、饼干和零食等点心，冰淇淋、雪糕和冰点心等冷饮，饮料、面包、烤饼、乳制品、火腿和香肠等畜肉制品类，或鱼糕和圆筒状鱼糕等鱼肉制品，副食品类、布丁、汤或果酱等饮食品中来使用。

[0031] 实施例 1

[0032] 试样

[0033] 使用 D(+)-半乳糖 (和光纯药 (和光純薬): 特级)、D(-)-山梨糖醇 (和光纯药: 一级)。

[0034] 供试菌株

[0035] 使用具核梭杆菌 JCM12990 株作为口腔内细菌。

[0036] 培养基

[0037] 使用添加有酵母提取物 (3.0g/l)、氯高铁血红素 (5.0mg/l)、甲萘醌 (0.5mg/l) 的胰蛋白胍大豆肉汤 (Trypticase soy broth) (下称 TSB 培养基)，在 37℃ 的厌氧条件下 (10% CO₂、10% H₂、80% N₂) 培养。对于含有半乳糖或山梨糖醇、或者含有半乳糖和山梨糖醇的培养基，制备溶解有半乳糖、山梨糖醇的 TSB 培养基，以使在 7.0ml 的 TSB 培养基中添加 3.0ml 时的最终浓度达到设定浓度。对全部培养基进行滤器 (爱德克 (ADVANTEC)、孔形 0.20 μm) 灭菌。

[0038] 菌数的测定

[0039] 将口腔内细菌具核梭杆菌 JCM12990 的预培养液添加至 TSB 培养基 7.0ml 中，培养至对数增殖期。除去与添加预培养液时等量的培养液，暂时使液量达到 7.0ml 后，添加制备好的含有半乳糖、山梨糖醇或者含有半乳糖和山梨糖醇的 TSB 培养基 3.0ml，以使 10.0ml 中的浓度达到设定浓度。此时，将添加不含半乳糖和山梨糖醇中的任一种的普通培养基 3.0ml 的试样作为对照。将它们在厌氧条件下培养 1 小时后，将培养试管移至小型振荡培养装置 (爱德克东洋株式会社 (アドバンテック東洋株式会社) Biophotorecorder TVS062CA) 内，在 37℃ 下培养 24 小时后，以波长 660nm 进行光学浓度 (optical density: 下称 OD 值) 的

测定（日立 (HITACHI)U-3900H 分光光度计）。

[0040] 实施例 2

[0041] 在实施例 1 中,准备含有 0.1M 或 0.6M 的半乳糖的半乳糖添加 TSB 培养基、含有 0.2M、0.3M 或 0.6M 的山梨糖醇的山梨糖醇添加 TSB 培养基、含有 0.4M 的半乳糖和 0.2M 的山梨糖醇、0.3M 的半乳糖和 0.3M 的山梨糖醇或者 0.3M 的半乳糖和 0.6M 的山梨糖醇的混合添加 TSB 培养基以及对照,进行试验。针对各 TSB 培养基而得的 OD 值示于图 1。用含有 0.1M 或 0.6M 的半乳糖的 TSB 培养基培养 24 小时,其结果是 OD 值大幅高于对照的 OD 值。有报道称具核梭杆菌代谢半乳糖（非专利文献 8~10）,推测因其影响而使增殖受到促进。此外,用含有 0.2M、0.3M 或 0.6M 的山梨糖醇的 TSB 培养基分别培养 24 小时,在 0.2M 的条件下确认到高于对照的 OD 值,在 0.3M 的条件下确认到与对照相同程度的 OD 值,在 0.6M 的条件下确认到低于对照的 OD 值。

[0042] 这里,用含有可预见到增殖的促进的 0.4M 的半乳糖和确认到增殖的促进的 0.2M 的山梨糖醇的混合添加 TSB 培养基培养 24 小时,其结果是,确认到低于对照的 OD 值。同样地,对于含有 0.3M 半乳糖和 0.3M 山梨糖醇以及含有 0.3M 半乳糖和 0.6M 山梨糖醇的培养基条件,也确认到低于对照的 OD 值,且该值比单独的 0.3M 山梨糖醇、0.6M 山梨糖醇的条件下的值更低。

[0043] 由以上结果可以确认,通过使培养基中含有半乳糖和山梨糖醇,具核梭杆菌的增殖受到抑制。

[0044] 实施例 3

[0045] 通过实施例 2,确认了将半乳糖和山梨糖醇同时添加至培养基中时的具核梭杆菌的增殖抑制效果,因此通过改变可确认该效果的半乳糖和山梨糖醇的比例,来研究是否能确认到同样的增殖抑制效果。另外,半乳糖和山梨糖醇的总摩尔浓度设定为 0.6M。针对各 TSB 培养基而得的 OD 值示于图 2。

[0046] 其结果是,在半乳糖:山梨糖醇=2:1、1:1、1:2、1:3 的各比例条件下确认到低于对照的 OD 值。增殖抑制的程度不依赖于半乳糖或山梨糖醇中的任一个的浓度,在半乳糖:山梨糖醇=1:2(半乳糖:山梨糖醇=0.2M:0.4M)的条件下确认到最强的增殖抑制效果。

[0047] 实施例 4

[0048] 对于在实施例 3 中确认到最强的增殖抑制效果的半乳糖:山梨糖醇=1:2 的条件,将比例固定,改变总摩尔浓度来进行同样的试验。针对各 TSB 培养基而得的 OD 值示于图 3。

[0049] 其结果是,对于总摩尔浓度为 0.3M、0.4M 的条件,确认到高于对照的 OD 值。另一方面,对于总摩尔浓度为 0.5M、0.6M、0.9M 的条件,确认到低于对照的 OD 值。增殖抑制的程度不依赖于总摩尔浓度,在 0.6M(半乳糖:山梨糖醇=0.2M:0.4M)的条件下确认到最强的增殖抑制效果。

[0050] 实施例 5

[0051] 本实施例在下面示出本发明的代表性的配方例,但本发明不限于此。

[0052] 按照下述配方制造漱口剂。

	乙醇	2.0重量%
[0053]	香料	1.0
	半乳糖	3.7
	山梨糖醇	7.4
[0054]	水	余分
		100.0

[0055] 实施例 6

[0056] 按照下述配方制造牙膏。

	碳酸钙	40.0重量%
	甘油	10.0
	羧甲基纤维素	2.0
	月桂基硫酸钠	2.0
	香料	1.0
[0057]	糖精	0.1
	氯己定	0.01
	半乳糖	5.5
	山梨糖醇	11.0
	水	余分
		100.0

[0058] 实施例 7

[0059] 按照下述配方制造口臭用喷雾剂。

	乙醇	10.0重量%
	甘油	5.0
	香料	0.05
[0060]	着色剂	0.001
	半乳糖	5.5
	山梨糖醇	11.0
	水	余分
		100.0

[0061] 实施例 8

[0062] 按照下述配方制造含片。

[0063]	阿拉伯胶	6.0重量%
--------	------	--------

	益寿糖(日文: パラチニット)	75.8
	香料	1.0
[0064]	半乳糖	5.5
	山梨糖醇	11.0
	单氟磷酸钠	0.7
		100.0
[0065]	实施例 9	
[0066]	按照下述配方制造口香糖。	
	胶基	20.0重量%
	益寿糖	61.5
[0067]	半乳糖	5.5
	山梨糖醇	11.0
	香料	2.0
		100.0
[0068]	实施例 10	
[0069]	按照下述配方制造糖果。	
	还原糖稀	34.0重量%
	益寿糖	33.5
	柠檬酸	2.0
[0070]	香料	0.2
	半乳糖	5.5
	山梨糖醇	11.0
	水	余分
		100.0
[0071]	实施例 11	
[0072]	按照下述配方制造压片糖。	
	蔗糖脂肪酸酯	0.2重量%
[0073]	益寿糖	78.6
	香料	0.2

	半乳糖	5.5
[0074]	山梨糖醇	11.0
	水	4.5
		<hr/>
		100.0
[0075]	实施例 12	
[0076]	按照下述配方制造软糖。	
	明胶	60.0重量%
	还原糖稀	21.6
	植物油脂	4.5
[0077]	苹果酸	2.0
	半乳糖	3.8
	山梨糖醇	7.6
	香料	0.5
		<hr/>
		100.0
[0078]	实施例 13	
[0079]	按照下述配方制造饮料。	
	橙汁	30.0重量%
	柠檬酸	0.1
	维生素C	0.04
[0080]	香料	0.1
	半乳糖	5.0
	山梨糖醇	10.0
	水	余分
		<hr/>
		100.0

[0081] 本申请要求基于 2011 年 6 月 30 日提出申请的日本专利申请第 2011-145737 号的优先权, 引用其内容作为本申请的一部分。

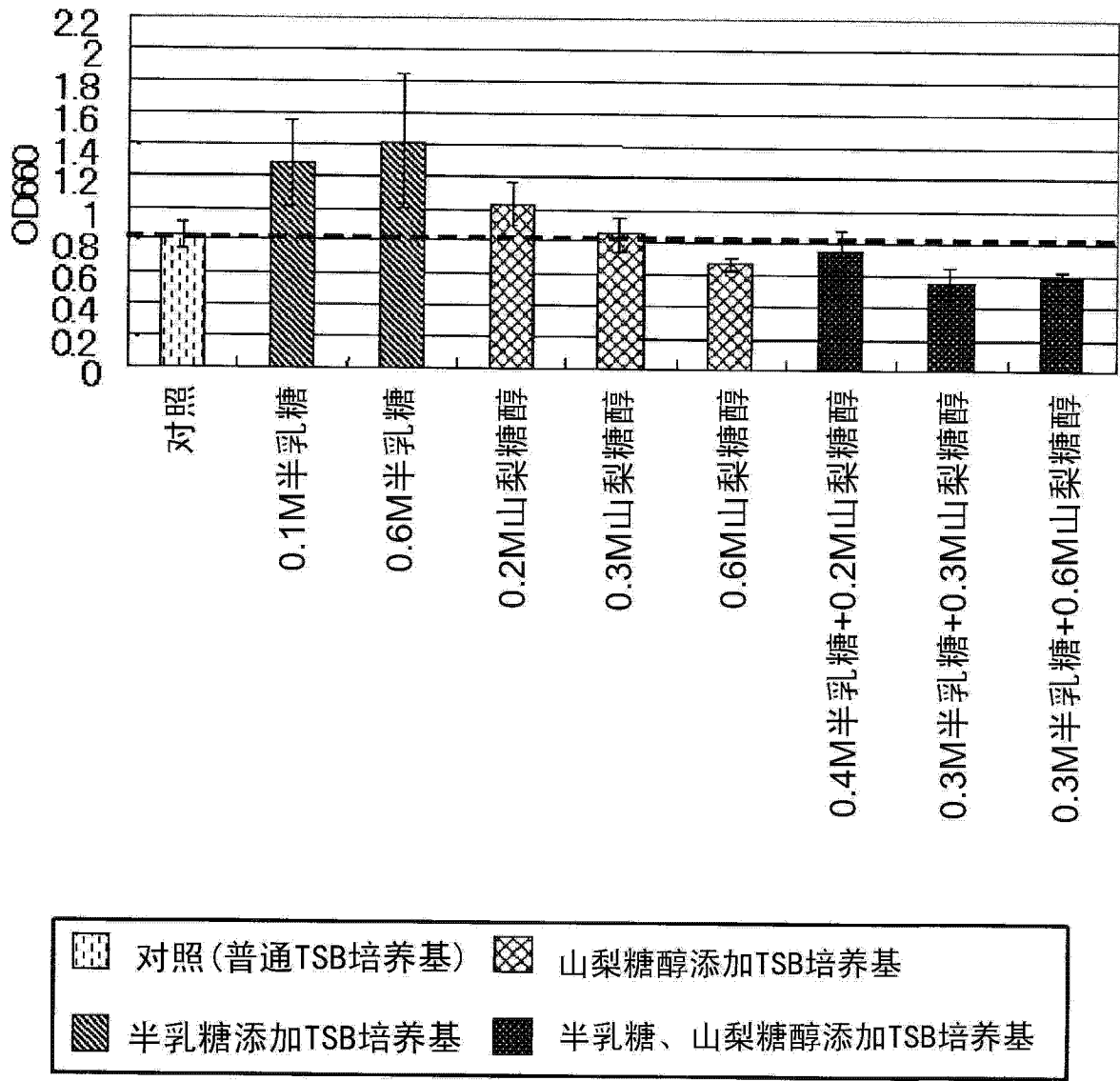


图 1

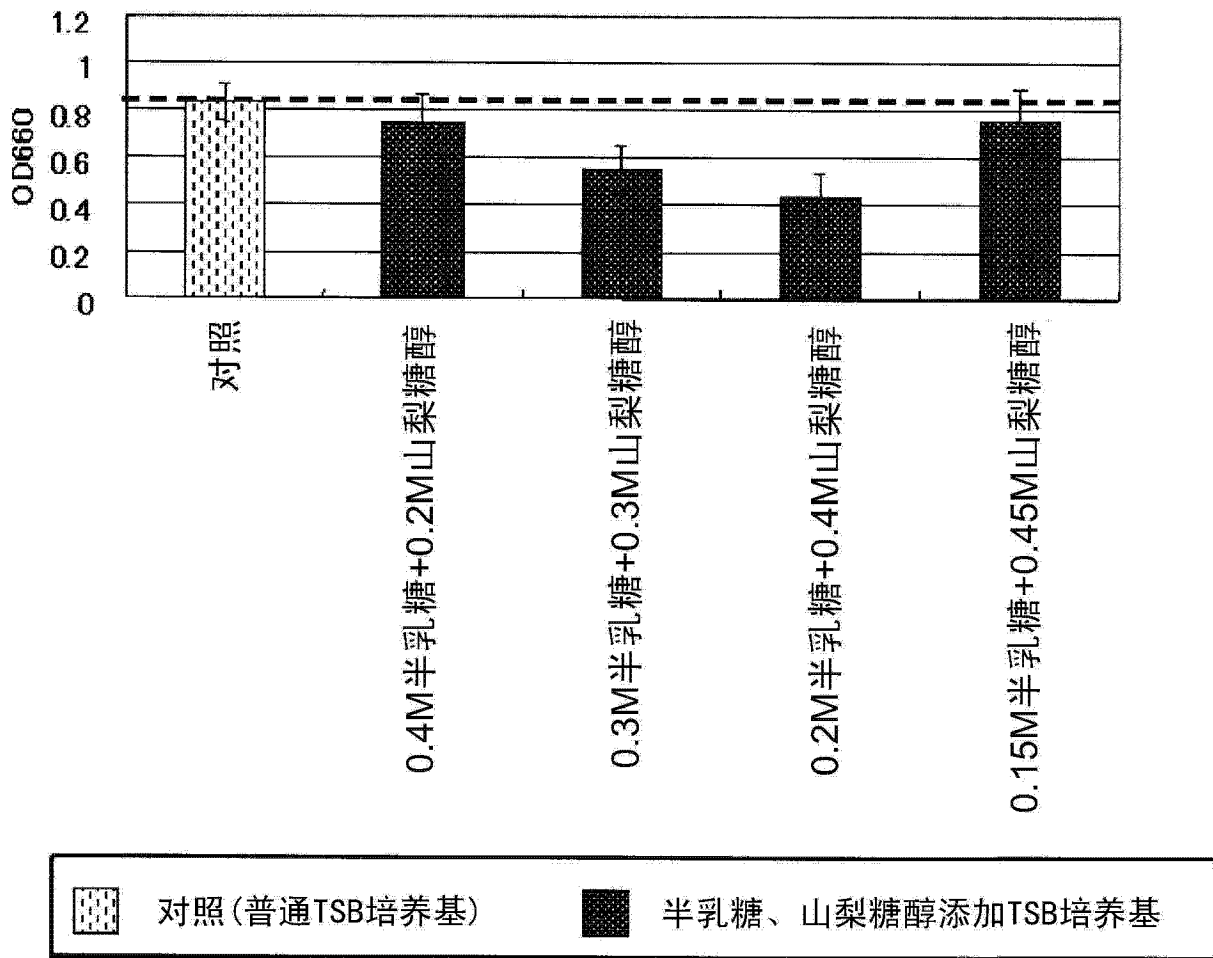


图 2

